

ESTUDIO POR TOMOGRAFIA AXIAL E HISTOLOGIA DE LA INTEGRACIÓN DE BIOPOLIMEROS IMPLANTADOS EN LESIONES DE MEDULA ESPINAL

Morales Axayacatl^{1,6}, Álvarez-Mejía A.L.^{1,6}, Mondragón-Lozano R.^{1,6}, Escalona-Delgado A.^{1,6}, Díaz-Ruiz A.², Ríos-Castañeda C.², Salgado-Ceballos H.^{3,5}, Cruz G. J.⁴, Olayo M.G.⁴, Aspiroz J.⁶, Rodríguez A.⁶, Morales J.¹, Olayo R.¹
oagr@xanum.uam.mx

¹*Departamento de Física, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México.*

²*Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez S.S.A., México.*

³*Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, México.*

⁴*Departamento de Síntesis y Caracterización, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, México.*

⁵*Centro de Investigación del proyecto CAMINA A.C., México.*

⁶*Departamento de Ingeniería Eléctrica, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México.*

Resumen.

La reconexión en medula espinal después de una lesión severa es de enorme importancia para pacientes que han sufrido este tipo de lesión. Hasta ahora, prácticamente ningún tratamiento ha tenido éxito en esa área. En este trabajo se presenta un estudio tomográfico e histológico sobre la evolución, desde el punto de vista de la reconexión axonal, de implantes de polímeros biocompatibles en lesiones por sección completa de médula espinal en ratas de la cepa Long Evans. El polímero biocompatible, polipirrol dopado con yodo, fue sintetizado usando plasma de resplandor. Se presentan los resultados de las tomografías axiales en la zona de la lesión medular y se estudia como se integran los biomateriales al tejido medular. También se realiza la reconstrucción tridimensional de la zona de lesión mediante un programa comercial Osiris. El estudio se complementa con la histología de la sección medular lesionada. Este estudio se realiza con TEM, SEM y Microscopía Óptica, permitiendo identificar células sanas e incluso axones.

Introducción.

La lesión traumática de la médula espinal (LTME) es un problema de salud pública que afecta principalmente a la población económicamente activa y tiene profundos efectos económicos físicos y emocionales [1]. En el Distrito Federal se ha reportado que la incidencia anual es de aproximadamente 18.1 nuevos casos por millón de habitantes [2]. Actualmente no se cuenta con una estrategia terapéutica efectiva para establecer la función neurológica normal, debido a la complejidad para regular los mecanismos de daño secundario, así como a la baja capacidad de regeneración espontánea [3].

Una nueva estrategia para la regeneración ó reconexión del tejido medular después una LTME es el uso de implantes biocompatibles para promover una posible recuperación funcional. Los implantes biocompatibles pueden estimular el crecimiento axonal. Actualmente se han desarrollado diversos protocolos para la regeneración del tejido medular como cultivos celulares, implantes de células progenitoras neuronales de embriones, implantes de polímeros conductores, etc [3-5]. Estos estudios han demostrado

que los implantes promueven una mayor recuperación funcional, sin embargo; los mecanismos que la favorecen son poco claros.

En este trabajo se presenta un estudio de tomografía axial computarizada e histología para evaluar la integración de implantes poliméricos en el tejido de médula de ratas de laboratorio a las cuales se les practicó una lesión por sección completa de la médula espinal.

Sección Experimental

El polímero que se implanto en las ratas de laboratorio fue polipirrol dopado con iodo. El polímero se sintetizó por plasma como una película delgada sobre un sustrato de vidrio. La síntesis del material se realizó en un reactor tubular de vidrio, de 9cm de diámetro y 20cm de longitud; la distancia entre los electrodos fue de 10cm. A los electrodos se le aplicó una señal de RF de 13.5MHz, potencia promedio de 18W; temperatura constante de 365°K, a una presión de 1.5×10^{-2} Torr con un potencial de 700V. Durante la síntesis se utilizó iodo en fase vapor como dopante, el monómero pirrol y el dopante se mezclaron libremente dentro de la cámara de reacción. El tiempo total de síntesis fue de 300min.

La lesión por sección completa de las ratas se realizó siguiendo los lineamientos establecidos en el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud. Se utilizaron ratas hembras adultas de la cepa Long Evans, de 12–14 semanas de edad con peso corporal de entre 230-250g, divididas en 2 grupos:

- Grupo control: Ratas con lesión por sección completa (LPSC) de la médula espinal a nivel de la 9a vértebra torácica (T9).
- Grupo Polipirrol-Iodo (PPy/I): Ratas con el mismo procedimiento quirúrgico y se les implantó una pastilla de polímero PPy/I.

Los animales fueron anestesiados y sometidos a un modelo de sección completa de la médula espinal utilizando tijeras de microcirugía y corroborando la desconexión completa con un asa quirúrgica, al término de la sección, justo en el sitio de lesión se introducirá en forma trasversal a la médula espinal un trozo de polímero semiconductor.

Cada animal fue escaneado mediante el tomógrafo (ELSI-CINT), aplicando un voltaje de 120 kV y una corriente de 400 mA obteniendo imágenes con una resolución de 512x512 pixels. Las imágenes de histología se tomaron a través de un microscopio óptico marca LEICA y se usó la técnica de hematoxilina/Eosina de Harris para colorear las células sanas.

Resultados y discusión

Tomografía axial computarizada.

Se determinó un intervalo de absorción para el coeficiente de atenuación lineal del polipirrol iodo, en la escala Hounsfield el coeficiente es de 80 y 110. Este coeficiente tiene un valor ligeramente mayor que el de la médula espinal.

En las Figuras 1 a 4 se muestran imágenes de tomografía axial de una rata implantada en la zona cercana a la lesión de médula espinal. Con estas imágenes se realiza la reconstrucción tridimensional de toda la zona de lesión. A través de falsos colores se puede reconstruir la zona dañada logrando identificar el polímero en la LTME. Para la reconstrucción se utiliza el programa comercial Osiris. Las dos primeras Figuras son de la zona anterior a la lesión. Se puede identificar la columna vertebral como una mancha de color blanco y la médula espinal se aprecia como una pequeña mancha gris en el centro de la columna vertebral. Las

tomografías de las Figuras 3 y 4 corresponden a la zona de lesión. En estas Figuras no se aprecia el corte completo transversal de la columna vertebral, les falta la parte superior, hay que recordar que se realizó una laminectomía y se quitaron las apófisis espinosas a la altura de la novena vértebra para tener acceso a la médula espinal. En esta misma zona se puede apreciar al polímero como una pequeña mancha de color diferente al de la médula espinal.

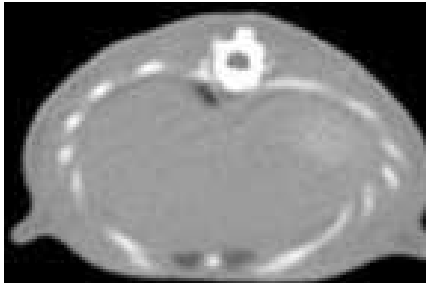


Fig 1. Imagen de una tomografía a una rata implantada con Polpirrol Iodo (zona anterior a la lesión).

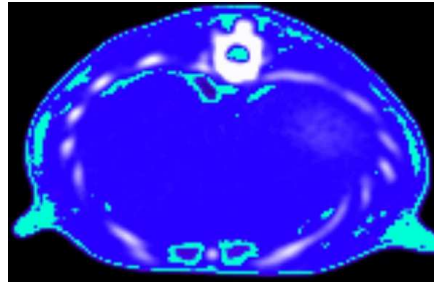


Fig 2. Imagen de una tomografía a una rata implantada con Polpirrol-Iodo (zona anterior a la lesión) aplicando color.

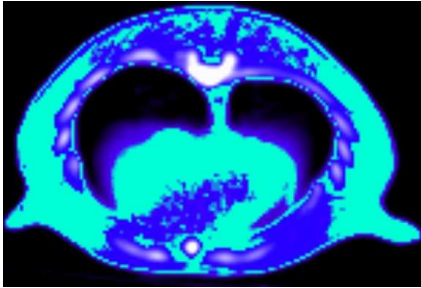


Fig 3. Imagen de una tomografía a una rata implantada con Polpirrol-Iodo (zona de la lesión) aplicando color falso.

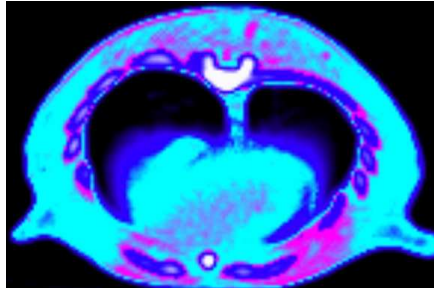


Fig 4. Imagen de una tomografía a una rata implantada con Polpirrol-Iodo (zona de la lesión) aplicando doble color.

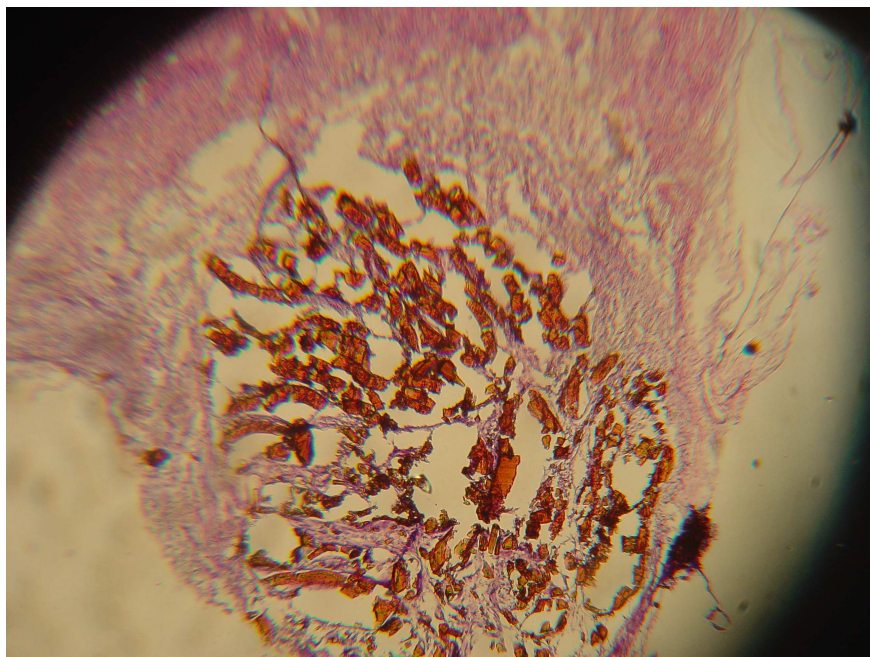


Fig 5. Histología de la zona lesionada con implante de PPy/I.

Histología

En la Fig. 5 se aprecia la zona lesionada. Se puede apreciar una gran cantidad de células en buen estado que están incluso en medio del material polimérico. También se puede apreciar los fragmentos de polímero que dispersos en toda la zona lesionada. Se observan células que atraviesan el polímero que pueden hacer el puente para la comunicación entre los dos extremos de la zona lesionada.

Conclusiones

La tomografía axial nos permite hacer una reconstrucción tridimensional de la zona lesionada, además permite estudiar la biointegración del material polimérico, la resolución no es la ideal pero al poder ver el material se puede seguir su evolución sin necesidad de sacrificio, esto se vuelve particularmente importante ya que se pueden seguir a varios animales y establecer la integridad del material. Actualmente se están haciendo pruebas con imágenes por resonancia magnética nuclear, donde esperamos obtener mejor resolución. La histología muestra como las células de la médula espinal interaccionan con el polímero, crecen hasta atravesar al zona lesionada y permiten tener comunicación entre los dos extremos de la médula.

Agradecimientos.

Los autores agradecen al CONACYT, proyecto de investigación SEP-2004-C01-46467, por el financiamiento parcial al desarrollo del presente trabajo.

Referencias

- [1] M. Berkowitz, C. Harvey, S. Wilson; *The economic consequences of traumatic spinal cord injury*, NY: Demos Medical Publishing.
- [2] Pardini CM. Epidemiología de la lesión medular traumática en el Distrito Federal, Tesis doctoral. Secretaria de Salubridad y Asistencia, México, 1998.
- [3] A. Díaz, G. Guisar, C. Ríos; *Estrategias neuroprotectoras después de una lesión traumática de la médula espinal*; Rev Med IMSS 2002; 40 (5): 437-455.
- [4] Morales J.; *Polimerización por plasma: tratamiento superficial y simulación del plasma*; tesis para obtener el grado de doctor en ciencias; UAM 2001.
- [5] Alvarez Mejía A-L, Mondragón Lozano R, Morales Axayacatl, *Interfaz Neuro-Motora, conector permanente de la extracción de señales neuro-motoras.*, Tesis de Licenciatura, UPIITA, IPN, México, D.F. 2004.